

Vascular calcifications and matrix Gla protein in hypertensive subjects

Citation for published version (APA):

Rennenberg, R. (2011). *Vascular calcifications and matrix Gla protein in hypertensive subjects*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20110706rr>

Document status and date:

Published: 01/01/2011

DOI:

[10.26481/dis.20110706rr](https://doi.org/10.26481/dis.20110706rr)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

Vascular calcification is a common condition seen among elderly subjects and subjects with a variety of cardiovascular risk factors. It is also prevalent in subjects with diabetes, renal insufficiency and hypertension. The presence of these calcifications is independently associated with a greater cardiovascular risk. The mechanisms of calcification are complex, but in the past decade abundant research has been devoted to unraveling these mechanisms. In **chapter 1** we discuss current knowledge on the differences in the initiating mechanisms and give an overview of the common pathway to vascular calcification. We discuss these mechanisms related to diabetes, renal insufficiency and hypertension.

Many of the factors involved in the calcification process are proteins. In recent studies these proteins have all been implicated to play a stimulating or inhibiting role in the calcification process. In **chapter 2** we discuss the biological properties of these proteins and their role in the calcification mechanism. We elaborate on possibilities to influence the function of these proteins in order to prevent or decrease calcification progression.

Chapter 3 gives the results of a meta-analysis of observational studies concerning vascular calcification and cardiovascular outcome. It is clear that any vascular calcification detected, independently of the imaging method used, harbours an increased cardiovascular risk in the patient.

Different average serum levels of the calcification inhibitory protein matrix gla protein (MGP) have been found in different patient groups. Subjects with the highest cardiovascular risk have the lowest levels of uncarboxylated MGP (ucMGP). There was no information about the average level of uncarboxylated and unphosphorylated MGP in hypertensive subjects. In **chapter 4** we present these average MGP levels in subjects with mild to moderate hypertension and compare them to a normotensive control group. On average, both total unphosphorylated MGP and total uncarboxylated MGP were lower in hypertensive subjects. This suggests a tendency for vascular calcification in these mild to moderate hypertensive subjects although this is not always visible on imaging.

Of the proteins mentioned in chapter 2, matrix gla protein (MGP) plays a central role in inhibiting calcification. Although the associations of MGP levels with cardiovascular risk and vascular calcification have been abundantly studied, little is known about clearance of this protein from the circulation. In **chapter 5** we present our study measuring renal clearance of MGP. As expected the renal clearance of this relatively small protein is not compromised in a wide range of renal function. Serum levels of MGP are mainly independent of renal function, probably unless the estimated glomerular filtration rate falls below 20 ml/min.

Because of the association of MGP levels and vascular calcification and secondly the association between vascular calcification and arterial stiffness we hypothesized that MGP serum levels are also associated with arterial stiffness. We investigated this

hypothesis in the Hoorn study population, an elderly population in which extensive measurements of arterial stiffness were done. The results are presented in **chapter 6**. There is a positive association with central arterial stiffness as reflected by Young's elastic modulus of the carotid artery, but no association, independent of confounding factors, was seen in any of the other stiffness variables. However, there was a significant association of unphosphorylated and uncarboxylated MGP levels with blood pressure, possibly proving that this is an important stimulator of the calcification process as reflected by increased MGP production.

MGP probably undergoes two post translational modifications. One is phosphorylation, promoting cellular excretion, the other is carboxylation by vitamin K. The latter is necessary for MGP to successfully inhibit the effects of BMP2 and prevent calcium precipitation in the vascular matrix. In **chapter 7** we present our study investigating the relationship between total vascular calcification as measured with computer tomography, vitamin K status and MGP. There was a significant association between vitamin K status and total vascular calcification. Furthermore there was an association between vitamin K status and ucMGP levels.

Vitamin K appears to be important to increase the levels of carboxylated MGP in order to inhibit the calcification process. Excessive vascular calcification has been found in animal experiments where rodents were treated with vitamin K antagonists (VKA's). There is also evidence of increased coronary calcification in humans using VKA's. However these studies were cross sectional, done in an elderly population and there might be confounding by indication. In **chapter 8** we investigate if treatment with VKA's in humans promotes vascular calcification independently of age and other cardiovascular risk factors in young subjects using this medication for more than 10 years. Indeed the odds ratio for having peripheral arterial calcifications in patients versus controls was 8.5 (95% confidence interval 2.01 – 35.95)

In **chapter 9** we discuss the main findings presented in this thesis. We elaborate on possible future research to further establish the clinical meaning of MGP levels and treatment of vascular calcification in order to lower cardiovascular risk in patients.

Samenvatting

Samenvatting

Vaatcalcificaties worden regelmatig gezien en dan met name bij ouderen en personen met allerlei cardiovasculaire risicofactoren. Het komt ook veel voor bij patiënten met diabetes, nierinsufficiëntie en hypertensie. De aanwezigheid van dergelijke vaatwand calcificaties is onafhankelijk geassocieerd met een verhoogd cardiovasculair risico. De mechanismen die vaatverkalking veroorzaken zijn complex, maar in het afgelopen decennium is er veel onderzoek gedaan om deze mechanismen op te helderen. In **hoofdstuk 1** bespreken we de huidige kennis met betrekking tot de verschillende oorzaken van vaatcalcificatie in patiënten met diabetes, nierinsufficiëntie en hypertensie. Daarnaast geven we een overzicht van het mechanisme dat waarschijnlijk in al deze patiënten groepen het zelfde is.

Bij het calcificatie proces zijn veel eiwitten betrokken. Van al deze eiwitten is uitvoerig onderzocht of ze een stimulerend of remmend effect op vaatverkalking hebben. In **hoofdstuk 2** bespreken we de biologische eigenschappen van deze eiwitten en hun rol in de verkalking van bloedvaten. We speculeren over de mogelijkheid om deze eiwitten zodanig te beïnvloeden dat de progressie van vaatcalcificatie geremd zou kunnen worden.

In **hoofdstuk 3** beschrijven we de resultaten van een meta-analyse van observationele studies met betrekking tot vasculaire calcificaties en cardiovasculaire eindpunten. Hieruit blijkt dat alle gevonden vasculaire calcificaties, onafhankelijk van de gebruikte afbeeldingmethode, een verhoogd cardiovasculair risico voor de patiënt betekenen.

Verskillende gemiddelde serum spiegels van het vaatcalcificatie inhiberende eiwit matrix gla proteïne (MGP) zijn gemeten in verschillende patiënten groepen met een verschillende mate van cardiovasculair lijden. Groepen met het hoogste cardiovasculaire risico hebben de laagste spiegels van ongecarboxyleerd (uc) MGP. Er was tot op heden geen onderzoek naar serumspiegels van ongefosforyleerd of ongecarboxyleerd MGP in hypertensie patiënten. In **hoofdstuk 4** presenteren we deze gemiddelde waarden gemeten in een groep met graad 1 tot 2 hypertensie en vergelijken die met een normotensieve controlegroep. Gemiddeld genomen was zowel het totale ongefosforyleerde als ook het totale ongecarboxyleerde MGP in de hypertensiegroep verlaagd. Dit suggereert dat in deze groep er mogelijk al een verhoogde neiging tot vaatverkalking bestaat hoewel dit dan nog niet altijd zichtbaar is.

Van alle eiwitten die genoemd worden in hoofdstuk 2, speelt MGP een centrale rol in de inhibitie van het calcificatie proces. De relatie van MGP met het cardiovasculaire risico en vaatcalcificaties is dan ook uitvoerig bestudeerd. Er is echter geen onderzoek gedaan naar de klaring van dit eiwit uit de circulatie. In **hoofdstuk 5** beschrijven we onze studie waarin we de renale klaring van ongefosforyleerd MGP bestuderen. Zoals verwacht is de klaring van een dergelijk klein eiwit stabiel onafhankelijk van de nierfunctie. De serumspiegels van ongefosforyleerd MGP zijn derhalve waarschijnlijk

onafhankelijk van de nierfunctie, tenminste zolang de geschatte creatinineklaring meer dan 20 ml/min bedraagt.

Vanwege de associatie van MGP serum spiegels met vasculaire calcificatie en ten tweede de relatie van vasculaire calcificatie met vaatstijfheid hadden we de hypothese dat een verminderde hoeveelheid functioneel MGP kan leiden tot meer vaatcalcificaties en daarmee tot meer stijfheid. Deze hypothese hebben we getest in de Hoorn studie populatie, een populatie met gemiddeld oudere personen waarin uitvoerig metingen van de vaatstijfheid zijn verricht. De resultaten zijn beschreven in **hoofdstuk 6**. Er is een associatie tussen totaal ongefosforyleerd, ongecarboxyleerd MGP en centrale arteriële stijfheid. Dit blijkt vooral uit de significante relatie tussen dit MGP en “Young’s elastic modulus” van de carotis. De associaties met andere stijfheidsmaten waren in deze studie niet significant. Er was wel een sterke relatie tussen MGP en meerdere bloeddruk determinanten. Mogelijk door een stimulatie van de MGP productie door druk.

MGP ondergaat waarschijnlijk een tweetal posttranslationale modificaties. Ten eerste is er fosforylatie om de cellulaire secretie te vergemakkelijken. Ten tweede is er carboxylatie door vitamine K. Dit laatste om het calcificatie inhiberende effect door remming van BMP2 en voorkoming van calcium neerslagen in de vasculaire matrix volledig tot expressie te laten komen. In **hoofdstuk 7** beschrijven we de associatie tussen totale vasculaire calcificatie (gemeten met computer tomografie), vitamine K status en MGP. Er was een significante relatie tussen vitamine K status en totale vasculaire calcificatie. Daarnaast bestond er een sterke relatie tussen vitamine K status en serum ucMGP.

Vitamine K lijkt derhalve belangrijk om de hoeveelheid functioneel MGP te vergroten en zo calcificatie te verminderen. In dierexperimenten heeft men dan ook excessieve verkalking gevonden als men de vorming van vitamine K blokkeert door het toedienen van vitamine K antagonisten (VKA’s). Een soortgelijk effect werd gezien bij mensen die VKA’s gebruikten en calcificatie van de coronairen. Deze studies waren echter cross sectioneel en verricht in een oudere populatie. Daarnaast was de indicatie voor het geven van VKA’s vaak een aandoening die ook sterk geassocieerd is met vaatcalcificaties wat mogelijk een versturende variabele zou kunnen zijn. In **hoofdstuk 8** onderzoeken we de invloed van langdurig (>10 jaar) VKA’s gebruik op vaatcalcificaties in een jongere populatie zonder andere cardiovasculaire risicofactoren. De Odd’s ratio voor het hebben van perifere vaatcalcificaties was in deze groep 8.5 (95% betrouwbaarheids interval 2.01 – 35.95) vergeleken met een gezonde controle groep.

In **hoofdstuk 9** bespreken we de belangrijkste uitkomsten van dit proefschrift en plaatsen we deze in perspectief. We speculeren over mogelijk toekomstig onderzoek om de klinische betekenis van MGP concentraties in bloed en de behandeling van vasculaire calcificaties om zodoende wellicht het cardiovasculaire risico van de patiënt verder te verlagen.